

Immunchemische Analysen an Paraproteinsen

von
Manfred Grumeth
aus
Regensburg

1969

1970 № 232



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Immunchemische Analysen an Paraproteinsen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Manfred Grumeth
aus
Regensburg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan : Professor Dr. H. Valentin

Referent: Professor Dr. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung : 26. 9. 1969

Herrn Professor Dr. med. F. Scheiffarth möchte ich herzlich danken für die Überlassung des Themas, die in Freundlichkeit erteilten Ratschläge, sowie für die Übernahme des Referates.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, an dieser Stelle Frau Privatdozent Dr. med. H. Götz herzlich zu danken für die tatkräftige Unterstützung in Rat und Tat während dieser Arbeit.



Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Untersuchungsgut	2
Versuchsanordnung	2
Methodik	4
Ergebnisse	4
Diskussion	28
Zusammenfassung	37
Literaturverzeichnis	39



Die Charakterisierung und Differenzierung von Paraproteinen erlangt, abgesehen von der Bereicherung nicht nur im Rahmen der Grundlagenforschung, sondern auch in der klinischen Medizin, wie die Erfahrungen der letzten Jahre zeigen, zunehmend an Bedeutung (8, 10a, 10 b, 13, 16, 19, 20, 25, 26, 29, 30, 31, 32 a, 32 b, 33, 34, 40, 46, 50 c, 53, 55, 56).

Derartige Untersuchungen dienen einer Klassifizierung bzw. einer Zuordnung der verschiedenen Paraproteinphänomene zu bestimmten Serumproteinen. Man erhofft sich außerdem von Strukturanalysen nähere Kenntnis über Beziehungen des Paraproteintyps zu bestimmten Zellfunktionen oder zum Schweregrad des Krankheitsbildes. Derartige Analysen dienen schließlich der Frage nach der verbliebenen immunologischen Reaktionslage. Bekanntlich handelt es sich bei dieser Krankheitsgruppe um Prozesse des lymphoplasmo-retikulären Systems, sowohl der Plasmazellen, wie auch der lymphozytären Elemente, welchen normalerweise die Bildung physiologischer Gamma- bzw. Immunglobuline zukommt.

Der Gruppe der Paraproteinosen liegt somit ein Prozeß zugrunde, der auf einer autonomen Wucherung mutierter Zellgruppen, sog. Clone des immunologisch aktiven Systems, beruht und der zumeist mit dem Nachweis eines stark vermehrten Gamma-Globulins einhergeht, welches in einem großen Teil der Fälle seiner antigenbindenden Eigenschaft verlustig gegangen ist.

In seltenen Fällen wird dieses atypische Protein vermißt, sei es deshalb, weil eine Art zellulärer Ausschwemmungshemmung vorliegt oder deshalb, weil die Mutation des Clons in einer Entwicklungsphase erfolgt ist, in welcher die entsprechenden Zellen noch nicht zu ihrer γ -Globulinsynthese befähigt, m. a. W. noch

außerordentlich unreif sind. In diesen Fällen findet man also das tumorartige Zellwachstum, jedoch keine Paraproteinämie und auch keine Paraproteinurie. Hier entgeht auch der serologischen Untersuchung der Nachweis einer Erkrankung des lymphoplasmato-retikulären Systems, weil hier gewissermaßen der Indikatorfaktor, das Paraprotein, nicht gegeben ist.

Umgekehrt aber bestehen Prozesse, bei welchen eine clonale Mutation von Zellen des immunkompetenten Systems wahrscheinlich in einem hochdifferenzierten Entwicklungsstadium zustande kommt, hier findet sich als einziger Indikatorfaktor das Paraprotein, nicht jedoch das Phänomen der autonomen Wucherung, weshalb diese Gruppe als rudimentäre Paraproteinämie bezeichnet wird.

Die klinisch seit APITZ (1 a , b , c) hinlänglich bekannten Paraproteinosen vom Typ der Myelomatose, des Morbus Waldenström, sowie mancher malignen Retikulose waren noch bis in unsere Gegenwart im allgemeinen nur aus der Trias Paraproteinämie, Sternalmarkbefund, sowie klinischer Charakteristika zu verifizieren. Mit der Differenzierung von Paraproteinen unter Anwendung immunologischer Methoden, vor allem mit Einführung der Immunoelktrophorese und der Herstellung hochqualifizierter Antiseren können nunmehr bereits durch immunoserologische Diagnostik Myelomproteine von pathologischen Makroglobulinen abgegrenzt werden, womit zugleich eine einwandfreie differentialdiagnostische Entscheidung mit Bezug auf die beiden großen Krankheitsgruppen getroffen werden kann. Durch Anwendung spezifischer monovalenter Antiseren gegen γ -Globulinklassen und monoclonaler Immunsereen gegen Spaltprodukte dieser Immunglobulinklassen gelingt eine exakte Zuordnung des Paraproteins zu einem physiologischen γ -Globulin und damit zu einem entsprechenden Zellsystem. Weiterhin kann

mit dieser Differentialtechnik auch die Frage eines sekundären Antikörpermangelsyndroms geklärt werden.

All diese Gesichtspunkte lassen es u. E. wichtig genug erscheinen, die komplette γ -Globulindifferenzierung auch in die Routinediagnostik einzuführen. Aufgrund eines inzwischen relativ umfassenden Untersuchungsgutes an Seren mit einem Paraproteingradienten sollen im nachfolgenden charakteristische Befunde und deren Interpretation wiedergegeben werden.

I. Untersuchungsgut, Versuchsanordnung und Methodik

1. Untersuchungsgut

Es wurden 67 Seren mit einem papierelektrophoretisch nachweisbaren Paraproteingradienten oder Doppelgradienten mit der Immunelektrophoresetechnik nach GRABAR und WILLIAMS bzw. der Mikro-Slute-Methode nach SCHEIDEGGER unter Verwendung eines polyvalenten Antihumanserums, monoclonaler Antiseren gegen die Immunglobuline IgA, IgG, IgM und IgD, ferner gegen die durch Papain abspaltbaren Polypeptidketten Fab-Fragment (=vorwiegend light chains) und gegen Fc-Fragment (=Heavy chains) und schließlich unter Verwendung spezifischer monoclonaler Antiseren gegen die leichten Ketten vom Typ BJK sowie BJK, analysiert. Außerdem wurden sämtliche Seren mit einem Anti-CRP-Serum getestet, nachdem neuerdings diskutiert wird, ob nicht auch das CRP als normales Immunglobulin aufzufassen ist.

2. Versuchsanordnung :

Jedes Serum wurde in zwei Analysensätzen analysiert, wobei in einem ersten Satz mit polyvalenten Antihumanserum und mit den monovalenten Antiseren gegen die bekannten Immunglobulin-

klassen sowie gegen CRP, auf einer zweiten Platte das Serum gegen L- und H-chains sowie gegen BJK und BJL getestet wurde.

3. Methodik:

Die Immunelektrophorese wurde prinzipiell nach den Angaben von GRABAR und WILLIAMS (21) unter Verwendung eines 1,5 %igen gepufferten (Michaelis-Puffer) pH = 8,2, $n = 0,05$ Agars vorgenommen. Für die vorliegenden Analysensätze wurden Glasplatten mit einer Abmessung 9mal 12 cm und einer für die Beschickung notwendigen Agarmenge von 20 ml gewählt. Die Elektrophoreselaufzeit betrug bei einem kompletten Analysensatz mit zwei Platten bei einem Elektrophoresepuffer pH = 8,2 $n = 0,05$ 150 Minuten. Die vorerwähnten Antisera wurden unverdünnt in die dafür vorgesehenen Kanäle bis zum Rand eingelassen. Sämtliche Agarplatten wurden nach beendeter Elektrophorese in physiologischer Kochsalzlösung zwei Tage unter mehrfachem Wechsel des Kochsalzbades gewässert und bei 37⁰ C unter Filtrierpapier getrocknet und anschließend mit Amidoschwarz 10 B gefärbt.

II. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der hier vorgenommenen Analysen sind in den Tabellen 1 - 9 sowie in den Abbildungen 1 - 17 wiedergegeben.

1. Ergebnisse mit polyvalenten Antihumanserum:

Aufgrund der Analysen mit polyvalenten Antihumanserum konnten im vorliegenden Untersuchungsgut insgesamt 33 γ G, 19 γ A und 13 γ -M-Anomalien festgestellt werden. Die γ G- Paraproteino- sen ließen sich weiterhin in 6 γ GI-, 14 γ G II - und 13 γ G III- Anomalien differenzieren. Über die prozentuale Zusammensetzung der Untersuchungsergebnisse in Bezug auf γ A-, γ G-, und γ M-Anomalien gibt Tabelle 1 Auskunft.

Tab. 1 :

n	γ G									
67	γ GI		γ G II		γ G III					
	n	rel %	n	rel %	n	rel %	n	rel %	n	rel %
	100 %	6	8,9	14	20,8	13	19,4	19	28,3	13

Weiterhin wurden die Untersuchungsergebnisse mit polyvalenten Antihumanserum in einer Übersicht durch die Abbildungen 1 - 3 beleuchtet.

Polyvalente Antihumanseren sowie die monoclonalen Antiseren gegen Fab und Fc Hyland Lab. Vertrieb Travenol Int. Munich. Alle übrigen monoclonalen Antisera wurden von den Behring-Werken Marburg an der Lahn bezogen.

Eine Übersicht über sämtliche Untersuchungsergebnisse bringt Tabelle 2

Tab. 2 :

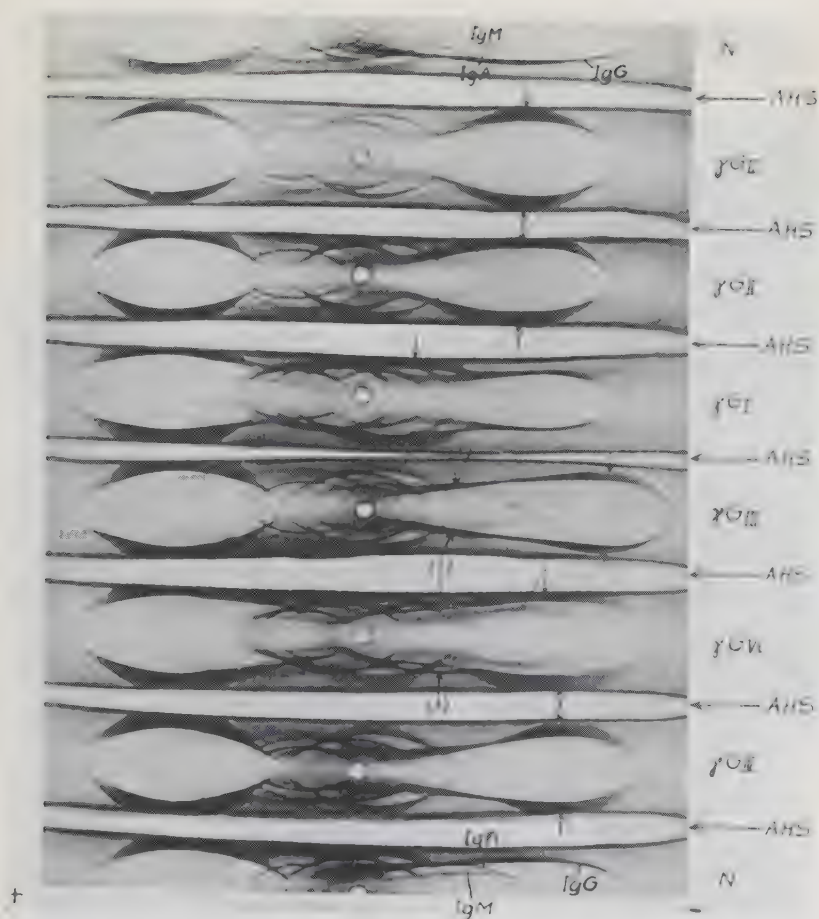
Nr	Anomalie	BJ		Fc	Fab	γA	γD	γG	γM	CRP
		k	l	H	L					
1	γM	$\emptyset$	$\emptyset$	+	path	+	$\emptyset$	+	path	Typ 2
2	γM	+	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	+	path	Typ 2
3	γA	path	$\emptyset$	+	path	path	$\emptyset$	+	Spur	$\emptyset$
4	γGI	$\emptyset$	$\emptyset$	path	+	+	$\emptyset$	path	+	$\emptyset$
5	$\gamma G III$	$\emptyset$	$\emptyset$	path	path	+	path	path	+	$\emptyset$
6	γM	$\emptyset$	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	+	path	$\emptyset$
7	γA	$\emptyset$	$\emptyset$	+	+	path	$\emptyset$	+	Spur	$\emptyset$
8	$\gamma G II$	$\emptyset$	$\emptyset$	path	path	+	$\emptyset$	path	+	Typ 2
9	γA	$\emptyset$	$\emptyset$	+	$\emptyset$	path	+	+	+	$\emptyset$
10	γGI	+	$\emptyset$	path	path	+	$\emptyset$	path	Spur	Typ 1
11	$\gamma G II$	$\emptyset$	$\emptyset$	path	+	+	$\emptyset$	path	+	Typ 1
12	γA	$\emptyset$	$\emptyset$	+	+	path	$\emptyset$	+	$\emptyset$	Typ 2
13	γM	$\emptyset$	$\emptyset$	+	+	+	Spur	+	path	$\emptyset$
14	$\gamma G III$	$\emptyset$	$\emptyset$	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	path	Spur	Typ 1
15	γA	$\emptyset$	$\emptyset$	+	+	path	$\emptyset$	+	++	Typ 1
16	$\gamma G II$	$\emptyset$	$\emptyset$	path	+	+	Spur	path	+	Spur
17	γA	$\emptyset$	$\emptyset$	+	+	path	+	+	+	Spur
18	$\gamma A + \gamma GI$	+	$\emptyset$	path	+	path	+	path	++	Spur
19	$\gamma G I$	$\emptyset$	$\emptyset$	path	path	+	+	path	+	$\emptyset$
20	γA	$\emptyset$	$\emptyset$	+	+	path	+	+	+	$\emptyset$
21	γA	$\emptyset$	$\emptyset$	+	$\emptyset$	path	+	+	+	$\emptyset$
22	$\gamma G I$	$\emptyset$	$\emptyset$	path	$\emptyset$	+	$\emptyset$	path	+	$\emptyset$
23	γM	+	$\emptyset$	+	path	+	$\emptyset$	$\emptyset$	path	Typ 1+2
24	γA	+	$\emptyset$	+	+	path	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$
25	γA	+	path	path	Spur	path	+	+	Spur	$\emptyset$
26	$\gamma G II$	++	$\emptyset$	path	path	Spur	$\emptyset$	path	Spur	$\emptyset$
27	$\gamma G II$	path	$\emptyset$	path	path	+	$\emptyset$	path	+	Typ 1+2
28	$\gamma G II$	+	$\emptyset$	path	+	+	+	+	path	$\emptyset$
29	$\gamma G II$	path	$\emptyset$	path	path	+	+	path	+	$\emptyset$
30	γA	$\emptyset$	$\emptyset$	+	path	path	+	+	+	$\emptyset$

Fortsetzung der Tab. 2 :

Nr.	Anomalie	BJ		Fe	Fab	γ A	γ D	γ G	γ M	CRP
		k	l	H	L					
31	γ A	∅	∅	+	path	path	+	+	+	∅
32	γ G I	+	∅	path	+	+	+	path	+	Typ 2
33	γ G II	path	path	path	path	+	+	path	+	Typ 1+2
34	γ A	path	∅	+	path	path	∅	+	∅	Typ 2
35	γ G III	path	∅	path	path	+	+	path	+	Typ 2
36	γ G II	+	path	+	path	Spur	∅	path	∅	Typ 2
37	AKM	+	∅	+	+	∅	∅	+	∅	Typ 2
38	γ G I	path	∅	path	path	+	Spur	path	+	∅
39	γ A	+	∅	+	+	path	Spur	+	Spur	∅
40	γ G III + γ A	path	∅	path	path	path	+	path	+	Typ 2
41	γ A	+	∅	+	+	path	+	+	+	Typ 2
42	γ G II	path	∅	+	path	+	+	path	Spur	∅
43	γ G II	+	∅	path	path	+	+	path	Spur	∅
44	γ G I	path	∅	path	path	+	∅	path	Spur	Typ 1+2
45	γ G III + γ M	+	∅	+	path	+	∅	path	path	∅
46	γ M	±+	∅	+	+	+	∅	+	path	Typ 2
47	γ M	+	∅	+	path	+	+	+	path	Typ 1+2
48	γ G III	+	∅	path	path	+	+	path	+	∅
49	γ G I	+	∅	path	+	+	∅	path	+	∅
50	γ A	Spur	∅	+	+	path	+	+	+	∅
51	γ G II	+	Spur	path	+	+	+	path	+	Typ 2
52	γ G II	+	∅	path	+	+	Spur	path	+	Typ 2
53	γ M	Spur	∅	+	+	+	∅	+	path	∅
54	γ A	+	∅	+	path	path	Spur	+	Spur	∅
55	γ A	+	∅	+	+	path	+	+	+	∅
56	γ G III	Spur	∅	path	+	+	∅	path	+	Typ 2
57	γ M	Spur	∅	+	path	+	∅	+	path	Typ 2
58	γ M	+	∅	+	+	+	∅	+	path	∅
59	γ M	∅	∅	+	+	+	+	+	path	Typ 2
60	γ G III	∅	∅	path	path	+	∅	path	+	Typ 2

Fortsetzung Tab. 2 :

Nr	Ano- malie	BJ		Fc		γ A	γ D	γ G	γ M	CRP
		k	l	H	L					
61	γ M	path	$\emptyset$	+	path	Spur	$\emptyset$	+	path	Typ 2
62	γ G III	+	$\emptyset$	path	path	Spur	$\emptyset$	path	+	Typ 2
63	γ A	path	$\emptyset$	+	path	path	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$
64	γ M	+	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	Spur	path	$\emptyset$
65	γ G II	+	$\emptyset$	path	path	$\emptyset$	$\emptyset$	path	$\emptyset$	$\emptyset$
66	γ G III	path	$\emptyset$	path	path	+	$\emptyset$	path	+	$\emptyset$
67	γ G III	path	$\emptyset$	path	path	+	$\emptyset$	path	+	$\emptyset$



AHS = Antihuman serum

Immunelektrophoresen einer Reihe pathologischer Seren des vorliegenden Untersuchungsgutes mit verschiedenen Paraproteinphänomenen (Pfeil)

Abb 2

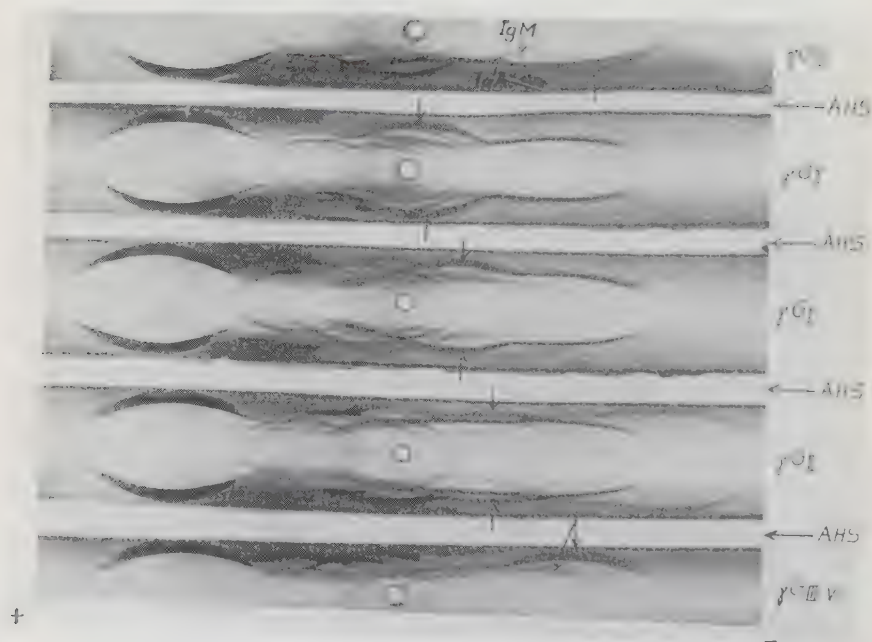
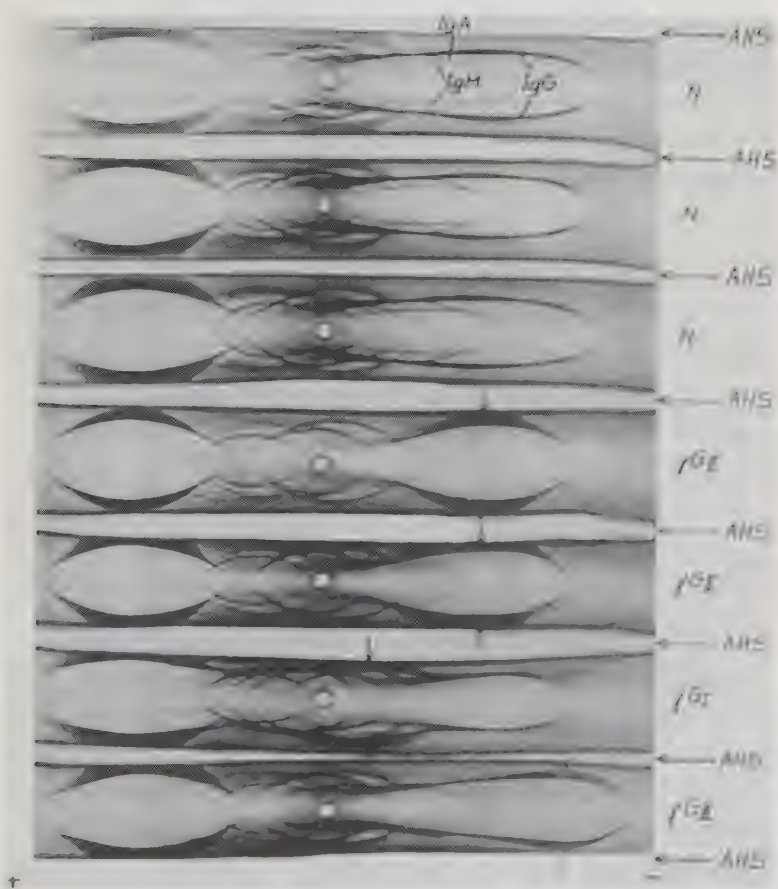


Abb. 3



Es zeigten sich bei dem vorliegenden Untersuchungsgut drei Doppelanomalien und zwar in der Gestalt, daß in zwei Fällen eine γ G-Anomalie mit einem γ A-Paraprotein vergesellschaftet war und in einem drittel Fall ein γ M-Doppel-Paraprotein durch die Immunelektrophoresetechnik aufgezeigt werden konnte. In Abbildung 4 wird auf dieses Phänomen hingewiesen.

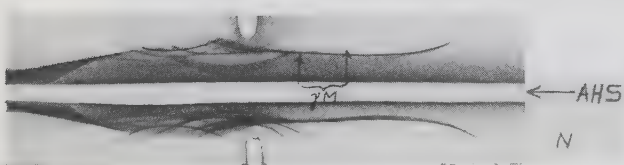
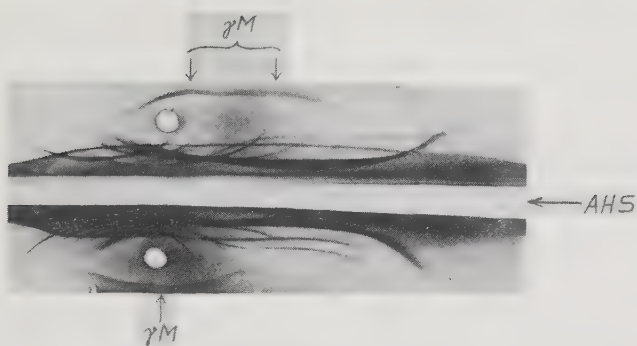
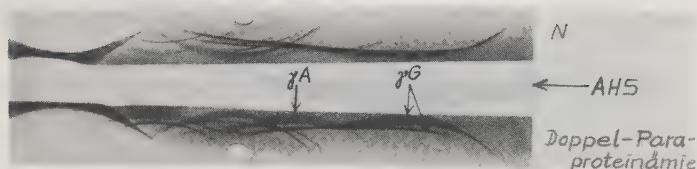
Ein partielles oder vollkommenes Antikörpermangelsyndrom wurde am häufigsten bei den γ G-Paraproteinen gefunden, während bei den γ A- und γ M-Anomalien dieses Phänomen in den Hintergrund getreten ist. Eine prozentuale Übersicht über die eben angeführten Ergebnisse zeigt Tab. 3 .

Tab. 3 :

	γ A		γ G		γ M	
n	19		33		13	
AKM	voll-kommen	partiell	voll-kommen	partiell	voll-kommen	partiell
	0	6	4	3	0	2
%	0	31,5	12,1	9,09	0	15,3

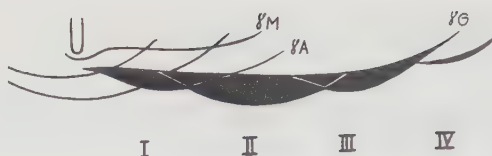
Die γ G-Paraproteine traten in drei Varianten auf, die als γ G I, γ G II und γ G III bezeichnet wurden. Die Nomenklatur bezieht sich auf die Paraproteinposition mit Bezug auf das physiologische γ G-Präzipitat. Gelegentlich nachweisliche γ G-Paraproteine mit einer noch geringeren elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit als die physiologischen γ G -Globuline konnten im vorliegenden Untersuchungsgut nicht festgestellt werden. Eine halbschematische Übersicht der erwähnten Präzipitationsphänomene zeigt Abbildung 5 .

Abb. 4 a - c



Immunelektrophoresen zweier Beispiele einer Doppelparaproteinämie
(oben: $\gamma A + \gamma G$ -Anomalie, **Mitte** : Doppelung der γM -Linie, unten:
Doppelung der γM -Linie)

Abb. 5 :

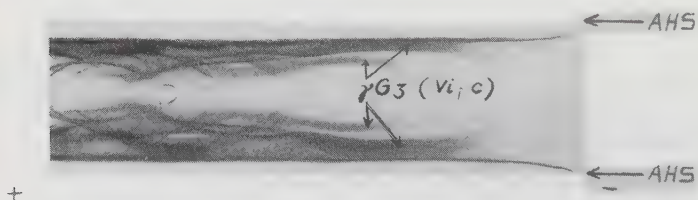


+

-

Halbschematische Darstellung der pathologischen γ G-Phänomene.
Die häufigsten Varianten sind die 3 Typen γ G I, γ G II, γ G III.

Abb. 6 :



γ G - Myelom (γ G III) mit einem zusätzlichen Präzipitat (Vi - Typ)

Außerdem wurde bei drei γ G-Myelomen ein zusätzliches Präzipitat mit geringerer Diffusionsgeschwindigkeit, also mit einer vom Antiserumkanal entfernteren Position festgestellt (Abb. 6). In einem einzigen Fall trat das Paraprotein als gedoppelte γ G-Fraktion in Erscheinung (Abb. 7).

Über die Varianten der γ G-Paraproteine geben die Tabellen 4 bis 6 Auskunft.

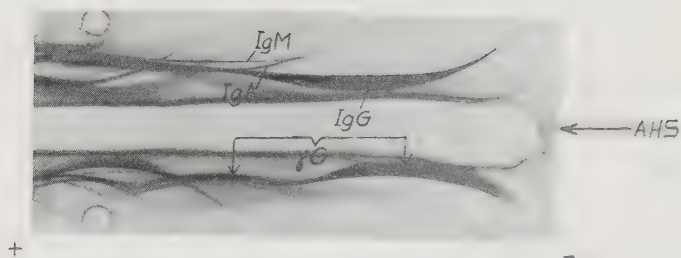
Tab. 4 :

Nr	Anomalie	Fab+ Fc path.	Fc	Fab	BJ		AKM	γ D	CRP
			H	L	k	l			
1	γ GI	$\emptyset$	path	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
2	γ GI	$\emptyset$	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
3	γ GI	$\emptyset$	path	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	+	Typ 2
4	γ GI	+	path	path	path	$\emptyset$	$\emptyset$	spur	$\emptyset$
5	γ GI	+	path	path	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ F-2
6	γ GI	$\emptyset$	path	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$

Tab. 4 a :

γ GI	n	Fab + Fc	Fc	Fab	BJ		AKM	CRP
					k	l		
	6	2	6	2	2	0	0	2
	rel %	33,3	100	33,3	33,3	0	0	33,3

Abb. 7 :



γ G-Myelom mit gedoppeltem Präzipitat (unten) im Vergleich zu Normalserum

Abb. 8 :



Präzipitationsphänomen mit einem spezifischen Anti-CRP-Serum

2. Ergebnisse mit monovalenten Antisera gegen die Immunglobulinklassen und CRP

Die Analysen mit den monoclonalen Antisera gegen die vier Immunglobulinklassen bestätigten die Befunde mit dem polyvalenten Antihumanserum. Eine bessere Differenzierung in Bezug auf die Paraproteinanomalien resultierte aus diesen Untersuchungen nicht, jedoch konnte eine bessere Darstellung der nicht paraproteinkonfigurierten Immunglobuline erzielt werden.

Mit den hier verwendeten spezifischen Anti-CRP-Serum gelang in 49,2 % der untersuchten Fälle ein einwandfreier Nachweis (Abb. 8).

Die CRP-Präzipitationslinie trat jedoch gemessen an ihrer elektrophoretischen Position, Form und Intensität von Fall zu Fall in drei verschiedenen Varianten in Erscheinung :

- CRP - Typ I : gedoppelte Präzipitationslinie gering unterhalb vom Antiserumkanal des γ G-Präzipitats (vom Antiserumkanal aus betrachtet)
- CRP - Typ II: relativ kurzer und schwacher Präzipitationsbogen in der ersten Hälfte der γ G-Linie, jedoch unterhalb derselben gelegen (mit relativ größerer elektrophoretischer Wanderungsgeschwindigkeit)
- CRP - Typ III : relativ kurzer und schwacher Präzipitationsbogen in der zweiten Hälfte der γ G-Linie, jedoch unterhalb derselben gelegen (mit relativ geringerer elektrophoretischer Wanderungsgeschwindigkeit).

3. Ergebnisse mit monoclonalen Antisera gegen heavy and light chains:

Die Testung mit Anti-H-chain-Serum ergab in jedem Fall eine positive Präzipitationsreaktion für das γ G-Protein, ungeachtet dessen, ob diese γ G-Protein physiologisch oder paraproteinämisch

Tab. 5 :

Nr.	Ano- malie	Fab + Fc path	Fc	Fab	BJ		AKM	γ D	CRP
			H	L	k	l			
1	γ G II	+	path	path	∅	∅	∅	∅	Typ I
2	γ G II	+	path	path	+	∅	∅	∅	Typ I
3	γ G II	∅	path	+	∅	∅	∅	∅	Typ I
4	γ G II	∅	path	+	∅	∅	∅	Spur	Spur
5	γ G II	∅	path	+	+	∅	∅	+	Spur
6	γ G II	+	path	path	++	∅	∅	∅	∅
7	γ G II	+	path	path	path	∅	∅	∅	Typ I+II
8	γ G II	∅	path	+	+	∅	∅	+	∅
9	γ G II	+	path	path	path	∅	∅	+	∅
10	γ G II	∅	+	path	+	path	+	∅	Typ II
11	γ G II	∅	+	path	path	∅	∅	+	∅
12	γ G II	+	path	path	∅	∅	∅	+	∅
13	γ G II	∅	path	+	+	∅	∅	Spur	Typ II
14	γ G II	+	path	path	+	∅	+	∅	∅

Tab. 5 a

γ G II	n	Fab + Fc	Fc	Fab	BJ		AKM	CRP
					K	l		
	14	7	12	9	3	1	2	6
	rel%	50	85,7	64,2	21,4	7,14	14,2	42,9

Tab. 6

Nr	Ano- malie	Fab + Fc path	Fc		BJ		AKM	γ D	CRP
			H	L	k	l			
1	γ G III	+	path	path	∅	∅	∅	∅	∅
2	γ G III	∅	path	∅	∅	∅	+	∅	Spur
3	γ G III	+	path	path	path	path	∅	+	Typ 1+2
4	γ G III	+	path	path	path	∅	∅	+	Typ 2
5	γ G III	+	path	path	path	∅	∅	+	Typ 2
6	γ G III	∅	+	path	+	∅	∅	∅	∅
7	γ G III	∅	path	∅	∅	∅	+	∅	∅
8	γ G III	∅	path	+	+	∅	∅	+	Typ 2
9	γ G III	∅	path	+	Spur	∅	∅	∅	Typ 2
10	γ G III	+	path	path	∅	∅	∅	∅	Typ 2
11	γ G III	+	path	path	+	∅	∅	∅	Typ 2
12	γ G III	+	path	path	path	∅	∅	+	∅
13	γ G III	+	path	path	path	∅	∅	+	∅

Tab. 6 a :

γ G III	n	Fab+ Fc	Fc	Fab	BJ		AKM	CRP
					k	l		
	13	8	12	9	5	1	2	7
	rel %	61, 5	92, 4	69, 2	38, 4	7, 6	15, 3	53, 7

verformt in Erscheinung trat. Bei γ G-Paraproteinen erwies sich die Paraproteinanomalie in insgesamt 90,9 % an die H-chains gebunden. Mit dem Anti-L-chain-Serum wurden 20 pathologische Präzipitate im γ G-Bereich, 7 im γ A-Bereich und 5 im γ M-Bereich nachgewiesen. In vier Analysen konnte kein Präzipitat bei der Testung mit Anti-L-chain-Serum festgestellt werden.

Der L-chain-Nachweis mit Paraproteinphänomen war 17mal vergesellschaftet mit dem gleichzeitigen Vorhandensein von H-chain-Paraprotein. Eine Übersicht über diese pathologischen Paraproteinphänomene zeigt die Tab. 9.

Tab. 9 :

n	γ G	H + L	H	L	H + L in % der Gesamtzahl
33	γ G I	2	4	-	6,06
	γ G II	7	5	2	21,2
	γ G III	8	4	1	24,2
19	γ A	-	-	7	0
13	γ M	-	-	5	0

Die γ A-Paraproteine traten sämtliche nur in Gestalt eines mehr oder minder intensiv dargestellten Präzipitatbogens mit der Position der γ A-Globuline auf. Über die einzelnen pathologischen Veränderungen bei den γ A-Paraproteinen gibt die Tabelle 7 Auskunft.

Tab. 7 :

Nr	Anomalie	Fc + Fab path	Fc	Fab	BJ		AKM	γ D	CRP
			H	L	k	l			
1	γ A	$\emptyset$	+	path	+	$\emptyset$	+	$\emptyset$	Spur
2	γ A	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
3	γ A	$\emptyset$	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
4	γ A	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	+	$\emptyset$	Typ 2
5	γ A	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ 1
6	γ A	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	+	Spur
7	γ A	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	+	$\emptyset$
8	γ A	$\emptyset$	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	+	$\emptyset$
9	γ A	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
10	γ A	$\emptyset$	+	path	+	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
11	γ A	$\emptyset$	+	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	+	$\emptyset$
12	γ A	$\emptyset$	+	path	+	Spur	$\emptyset$	+	$\emptyset$
13	γ A	$\emptyset$	+	path	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ 2
14	γ A	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	Spur	$\emptyset$
15	γ A	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	+	Typ 2
16	γ A	$\emptyset$	+	+	Spur	$\emptyset$	$\emptyset$	+	$\emptyset$
17	γ A	$\emptyset$	+	path	+	$\emptyset$	$\emptyset$	Spur	$\emptyset$
18	γ A	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	+	$\emptyset$
19	γ A	$\emptyset$	+	path	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$

Tab. 7 a

γ A	N	Fab + Fc	Fc	Fab	BJ		AKM	CRP
					k	l		
	19	0	0	9	2	1	2	4
	rel %	0	0	36,8	10,5	5,2	10,5	21

Unter den γ M-Paraproteinen konnten vier verschiedene Präzipitattypen differenziert werden: verstärkte und verlängerte γ M-Linien, gedoppelte γ M-Linien um die Auftragestelle entwickelte, relativ stark differenzierte Präzipitatlinie, sowie Präzipitاتفleck bzw. stark verkürzte und verpumpte γ M-Linie mit Spontanpräzipitation um die Auftragestelle. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der γ M-Paraproteine bringt Tabelle 8.

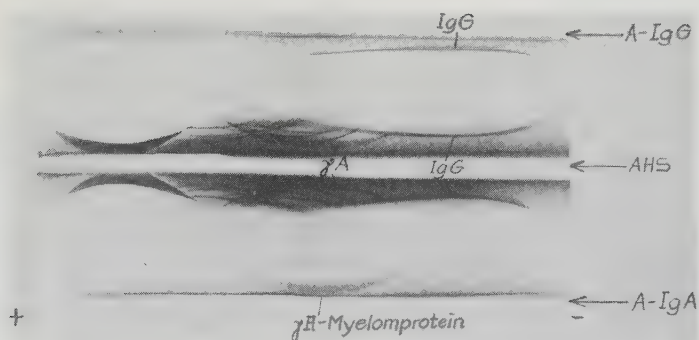
Tab. 8 :

Nr.	Anomalie	Fc + Fab path	Fc	Fab	BJ		AKM	γ D	CRP
			H	L	k	l			
1	γ M	$\emptyset$	+	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ 2
2	γ M	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ 1
3	γ M	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
4	γ M	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Spur	$\emptyset$
5	γ M	$\emptyset$	+	path	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ 1+2
6	γ M	$\emptyset$	+	+	++	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ 2
7	γ M	$\emptyset$	+	+	Spur	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
8	γ M	$\emptyset$	+	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ 2
9	γ M	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
10	γ M	$\emptyset$	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	+	Typ 2
11	γ M	$\emptyset$	+	path	path	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	Typ 2
12	γ M	$\emptyset$	+	path	+	$\emptyset$	$\emptyset$	+	Typ 1
13	γ M	$\emptyset$	+	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$

Tab. 8 a :

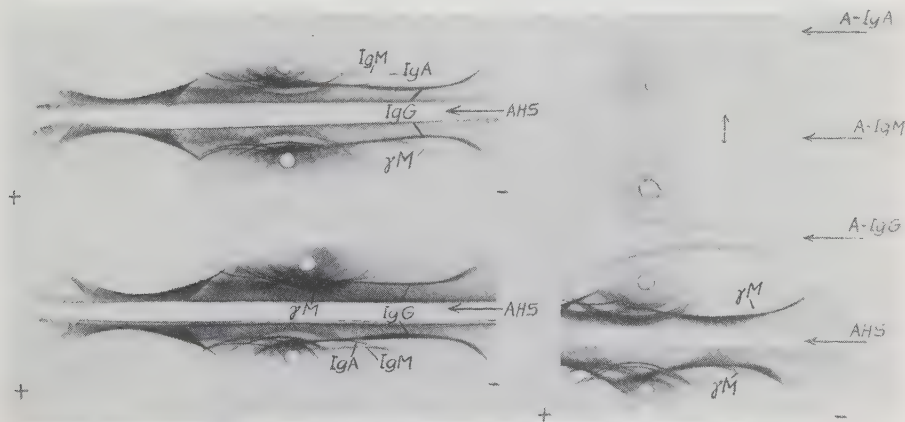
γ M	n	Fab + Fc	Fc	Fab	BJ		AKM	CRP
					k	l		
	13	0	0	5	1	0	0	8
	rel %	0	0	38,4	7,6	0	0	61,5

Abb. 9 :



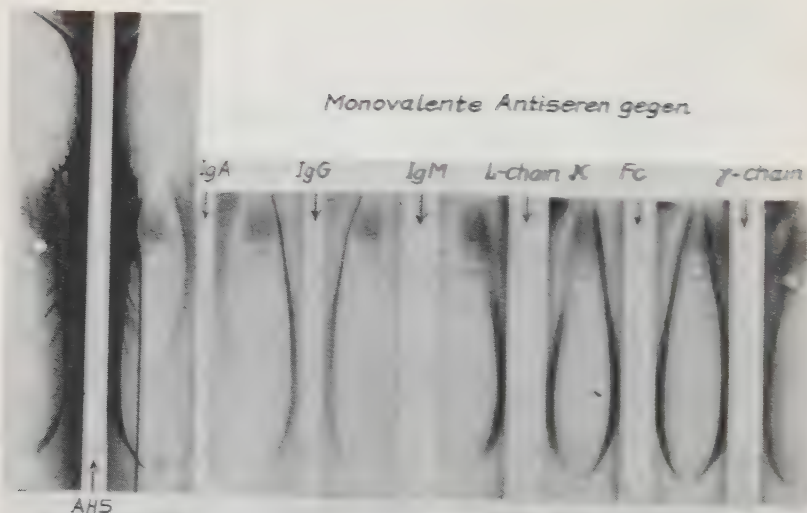
Immunoelktrophorese eines γ A-Myelomserums unter Verwendung eines polyvalenten Antihumanserums, sowie monoklonaler Antisera gegen γ A und γ G.

Abb. 10 a, b, c :



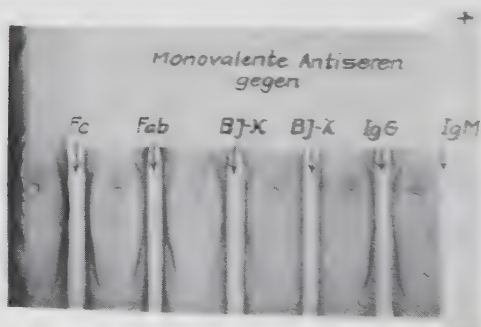
Zwei verschiedene Präzipitationsphänomene eines γ M-Paraproteinämie
C) Ein weiteres Beispiel einer γ M-Hyperglobulinämie unter Verwendung eines polyvalenten Antihumanserums und monoklonaler Antisera gegen γ G, γ A, γ M.

Abb. 11 :



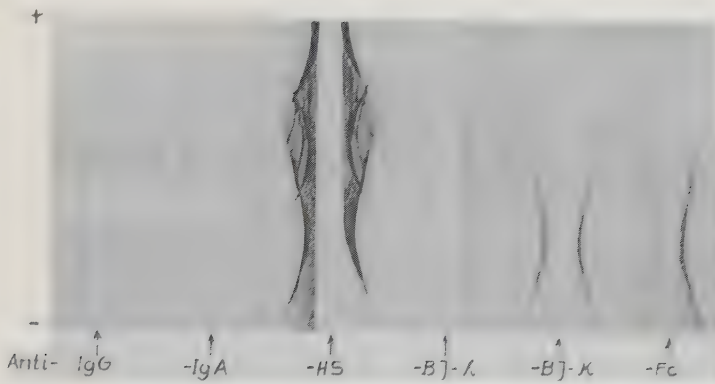
Analysensatz eines γ A-Myelomserums unter Verwendung eines Polyvalenten Antihumanserums, monoklonaler Antisera gegen IgA, IgG sowie IgM und monoklonaler Antisera gegen light chains kappa Typ sowie gegen zwei verschiedene monoklonale Antisera gegen Fc-Fragment (γ G) bzw. γ -chain.

Abb. 12 :



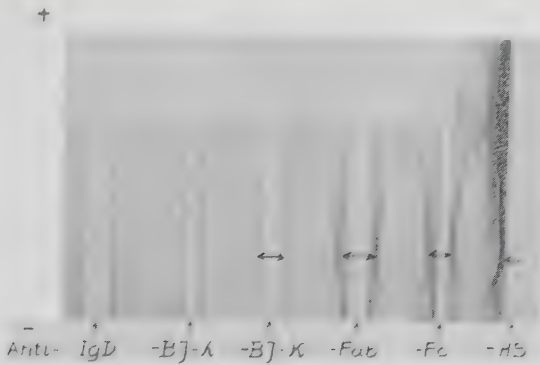
) GI-Präzipitat unter Verwendung polyvalenter Antihumansera und verschiedener monoklonaler Antisera.

Abb. 13 :



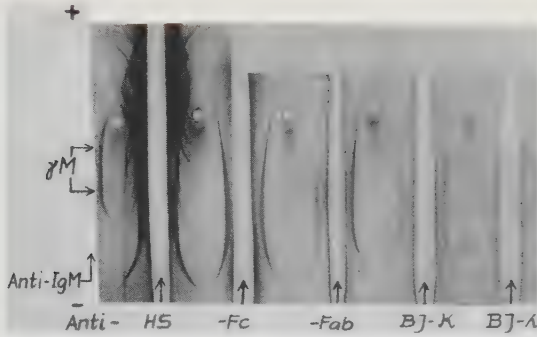
γ G II-Präzipitat unter Verwendung eines polyvalenten Antihumanserums und verschiedener monoclonaler Antisera.

Abb. 14 :



γ G III-Präzipitat unter Verwendung eines polyvalenten Antihumanserums und verschiedener monoclonaler Antisera.

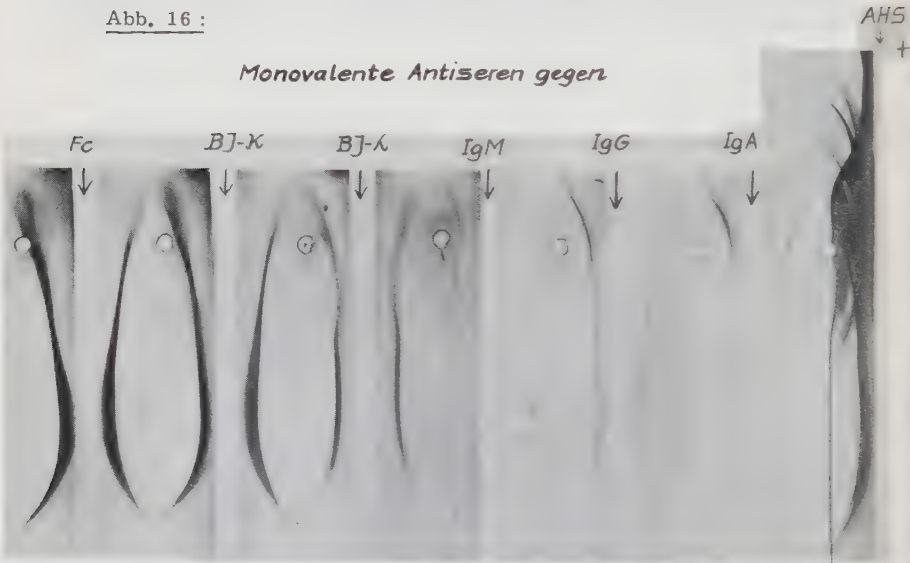
Abb. 15 :



γ M-Präzipitat unter Verwendung eines polyvalenten Antihuman-serums und verschiedener monoklonaler Antisera.

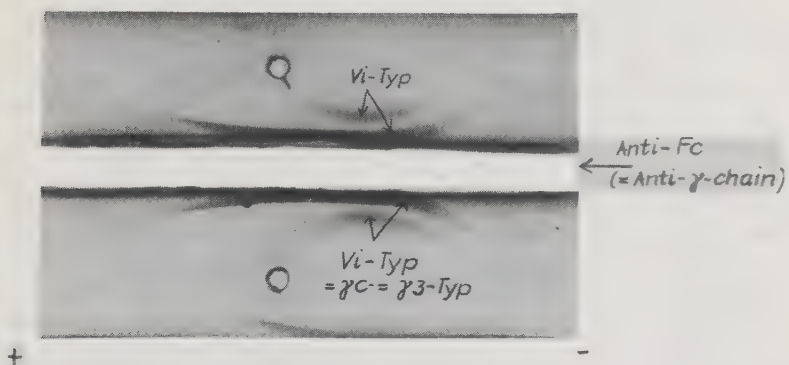
Abb. 16 :

Monovalente Antiseren gegen



Analysensatz eines Myelomserums mit γ A und γ G -Anomalie unter Verwendung spezifischer Antisera gegen γ A und γ G, sowie monoklonaler Antisera gegen γ G - Polypeptidketten

Abb. 17 :



Beispiele von γG - Subfraktionen vom Typ der γG (Vi), dargestellt mit monoclonalen Anti-Fc-Serum.

4. Ergebnisse mit monoclonalen Antisera gegen BJL und BJK

Die Testung mit Anti-BJK-Serum ergab in 59,8 % der Fälle positive Präzipitationsreaktionen. In 19,4 % der Fälle war die BJK-Eigenschaft an das Paraprotein gebunden. Dabei handelte es sich 10mal um γ -G-2mal um γ -A- und 1mal um β -M-Paraproteine. Darüber hinaus zeigten sich mit Anti-BJK-Serum in 26 Fällen an nicht paraproteinämisch verformten Immunglobulinen ein positives Präzipitat. Die Testung mit Anti-BJL-Serum ergab in 4,4 % der Fälle positive Präzipitatsreaktionen, bei welchen in allen Fällen das spezifische BJL-Präzipitat mit dem Paraproteinpräzipitat zusammenfiel.

Illustriert werden diese oben angegebenen pathologischen Ergebnisse durch die Abbildungen 9 bis 17.

III. DISKUSSION

Die in den jüngsten Jahren erzielten Fortschritte auf dem Gebiet der vergleichenden Strukturanalysen von Immunglobulinen und Paraproteinen, etwa durch enzymatische Spaltung der β -Globuline durch Papain (14, 15, 16 a, 41, 42, 43, 47) und nachfolgender immunologischer Identifizierung der dargestellten Komponenten, haben zu der Erkenntnis geführt, daß Paraproteine ihrem Wesen nach Immunglobuline sind. Demnach ist heute jedes Paraprotein einer der bekannten Immunglobulinklassen IgA, IgG, IgM, IgD und IgE zuzuordnen. Die meisten der Paraproteine weisen auch tatsächlich eine den Immunglobulinen gleichartige Molekülstruktur auf. Sie bestehen also im Prinzip aus zwei langen und zwei kurzen Polypeptidketten, H- und L-chains. Die L-Ketten kommen bei Immunglobulinen im Einzelmolekül entweder als K(kappa) oder L-(lambda)-Typ vor. Diese genannten Komponenten sind allen Immunglobulinen gemeinsam. Beim Gesunden kommen bei ein und demselben Individuum

Ig-Moleküle mit K-Ketten vom Typ kappa und solche mit L-Ketten vom Typ lambda in einem Verhältnis von 65,5 (70) Typ kappa und 35,5 (30) Typ lambda vor (6, 8, 10 a, b, 16 a, b, 48, 54, 58, 59, 64). Neuere Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Strukturanalysen von γ G - Immunglobulinen haben ergeben, daß darüber hinaus H- und L-chains hinsichtlich ihrer Antigeneigenschaft Heterogenität aufweisen. An H-Ketten konnten bis heute vier verschiedene solcher determinanter Gruppen differenziert werden. Sie werden mit γ 2 a (Ne), γ 2 b (We), γ 2 c (Vi), und γ 2 d (Gc) bezeichnet (5, 6, 9, 10 a, b, 12 a, b, 18, 22 a, b, 36, 38, 58, 60, 61, 62, 63, 65, 72). Die H-Ketten besitzen die für die Immunglobuline und damit auch für die entsprechenden Paraproteine klassen- oder typenspezifischen Antigenmerkmale (Alpha, Gamma, Mü, Delta- und Epsilon) und zeigen untereinander keine immunologische Antigengemeinschaft.

Paraproteine unterscheiden sich von normalen Immunglobulinen dadurch, daß H-Ketten oder L-Ketten oder H- und L-chains entartet in Erscheinung treten können und außerdem dadurch, daß sie mit Bezug auf ihre L-Ketteneigenschaft immer nur entweder als Typ kappa oder Typ lambda vorkommen. Sie sind ferner dadurch gekennzeichnet, daß eine Determinante der H-chains und/oder eine Antigeneigenschaft der L-chains paraproteinämisch bzw. durch isolierte Vermehrung in Erscheinung treten können.

Inwieweit diese pathologisch veränderten γ -Globuline auch ihre Funktion als Immunglobuline, nämlich ihre antigenbindenden Eigenschaften verloren oder geändert haben, steht heute noch zur Diskussion. Paraproteine wurden bislang als immunologisch inert, d. h. ohne Antikörperspezifität, erklärt. Inzwischen bekannt gewordene klinische Untersuchungsergebnisse sowie insbesondere

neuere Forschungsergebnisse an experimentell induzierten Paraproteinosen der Maus haben jedoch gezeigt, daß Myelomproteine wie auch makromolekulare Paraproteine mit bakteriellen Proteinen sowie mit einer Reihe von Haptenen spezifische Bindungen im Sinne einer Antigen-Antikörper-Reaktion einzugehen vermögen. Dabei sind die antigenbindenden Eigenschaften eines γ -Globulinmoleküls im wesentlichen an das N-terminale Ende der L-chains gebunden.

Als Bildungsstätte für Paraproteine kommen autonom gewucherte Zellgruppen sog. Clone des lympho-plasmo-retikulären Systems in besonderen Plasmazellen und lymphozytäre Elemente in Frage, die unter normalen Bedingungen dem immunologisch aktiven Zellsystem angehören, und die im wesentlichen zur γ -Globulinsynthese befähigt sind. Es ist deshalb unschwer, Beziehungen herzustellen zwischen den vielfach als Systemerkrankungen in Erscheinung tretenden Paraproteinosen, wie z. B. Myelomatose, Morbus Waldenström oder maligner Retikulose, und dem Zellprodukt, dem Paraprotein, welches klinisch zum serologisch faßbaren Indikatorfaktor werden kann. Die oben erwähnten Krankheitsgruppen sollen in einer tabellarischen Übersicht kurz wiedergegeben werden.

Paraproteinämien

1. Maligne Paraproteinämien

Sie sind gekennzeichnet durch autonomes Wachstum clonal mutierter, paraproteinbildender Zellen des lympho-plasma-retikulären Systems.

a) Myelom

γ G - (verschiedene Formen) γ A - γ D- und γ E- (γ ND)-

Myelome möglicherweise auch γ M-Myelome

Mikroparaproteine vom Typ des Bence-Jones-Myeloms

Mischformen im Sinne der Doppelparaproteinämien

Isolierte H-chain-Paraproteinosen, H-chain-disease.

b) Makroglobulinämie Waldenström (28, 66)

γ M-Paraproteinämie

Mischformen mit a),

Kombination mit Kryoglobulinen

c) Maligne Retikulosen (44, 67, 71 b)

und andere Systemerkrankungen des lympho-plasma-retikulären Systems

2. Benigne Paraproteinämien (45)

Sie sind gekennzeichnet durch clonale Entartung von Teilen des lympho-plasma-retikulären Systems mit Paraproteinbildung, jedoch ohne die Zeichen eines unkontrollierten überstürzten Zellwachstums.

a) Rudimentäre Paraproteinämie bei völlig Gesunden

b) Paraproteinämien mit verschiedenen Erkrankungen

vergesellschaftet, die eine Störung des lympho-plasma-retikulären Systems nicht ohne weiteres erkennen lassen, z. B. bei Diabetes mellitus, Gicht, Asthma bronchiale u. a.

Die vorliegenden Differenzierungsergebnisse von Paraproteinen unter Verwendung monovalenter Antiseren gegen die verschiedenen Immunglobulinklassen, sowie gegen BJK und BJL haben einige Besonderheiten in Bezug auf deren Molekülstruktur aufgedeckt. Es ist zunächst festzustellen, daß in jedem der untersuchten Seren das Paraproteinphänomen an eine der bekannten Immunglobulinklassen am häufigsten an das IgG gebunden war. Das steht in Übereinstimmung mit den Erfahrungen (23 a, b, 24, 27, in 35, 39, 51, 68, 69, 70, 71 a) und insbesondere der aus neuerer Zeit stammenden Literatur (49, 52, 50 c, 55, 65). Paraproteinämien vom Typ des γ D-Plasmo-cytoms konnten in dem vorliegenden Untersuchungsgut nicht nachgewiesen werden, wiewohl in der einschlägigen Literatur über γ D-Paraproteinämien berichtet wurde (7, 11).

Die mit monovalenten Antiseren erzielten Ergebnisse mit der Beurteilung des nicht paraproteinämisch veränderten Immunglobulinsystems hinsichtlich eines Antikörpermangel-Syndroms ist klinisch von wesentlicher Bedeutung (2, 3). Unter der Voraussetzung, daß tatsächlich ein ausgeprägtes Antikörpermangelsyndrom besteht, wäre - trotz einer Hypergamma- in diesem Falle Hyper-Paraproteinämie, eine γ Globulin-Substitutionstherapie angezeigt.

Aufgrund der weiteren Analysen unter Verwendung von Antiseren gegen Fc- und Fab - Fragmente konnte gezeigt werden, daß die Paraproteinstruktur entweder ausschließlich in einer Änderung der H-Ketten bei normalen L-Ketten, oder in einer Änderung der L-chains bei normalen H-chains, oder aber in einer Änderung der H- und und der L-chains zu suchen ist.

In keinem der untersuchten Patientenseren waren im Paraproteinmolekül nur H-chain oder nur L-chains nachweisbar. Somit konnte also in dem vorliegenden Serumgut weder ein Paraprotein vom Franklin-Typ noch eine isolierte BJ-Mikro-Paraproteinämie nachgewiesen werden.

In den vorliegenden Serumproben war bei γ G - Myelomen im Paraproteinmolekül in 51,5 % eine Anomalie sowohl an heavy als auch an light chains gebunden festzustellen, in 39,3 % war eine Verformung nur der H-chain-Präzipitatlinie, nicht aber der L-chains nachweisbar, während in 9,09 % das Paraproteinphänomen an die L-chains alleine nicht aber an die H-chains gebunden war.

Eine Zuordnung der verschiedenen hier als γ G-I - III bezeichneten Paraprotein-Präzipitatsphänomene zu H- und L-chain Subklassen vom Typ der H γ 2, a, γ 2 b, γ 2 c, γ 2 d bzw. L kappa I oder kappa II oder L lambda I oder lambda II gelingt im allgemeinen mit einem polyvalenten Antiserum oder monoclonalen Antiserum nicht ohne weiteres. Es ist aber anzunehmen, daß die in Abbildung 16 wiedergegebenen Befunde einer dieser Subklassen entspricht.

Möglicherweise sind aus diesen Beobachtungen Schlußfolgerungen zu ziehen, auf eine Art Hybridisation, wobei γ G I - III (eigene Nomenklatur) etwa einem genetisch unterschiedlichen Anteil der IgG-Globuline entspricht: in Analogie zum Gc - oder Hp-System würde die von uns bezeichnete γ G I = γ G 1, γ G III = γ G 2 und γ G II einem Hybrid γ G 1 - 2 entsprechen.

Es muß bei diesen Ergebnissen weiter darauf hingewiesen werden, daß mit Bezug auf die Heavy-chain-Differenzierung nur die Paraproteine vom Typ der γ G-Proteine erfaßt werden konnten, da unter den handelsüblichen Polypeptid-chain-Antisera derzeit nur Anti-heavy-chain-Sera gegen γ -Globuline, also γ -chain-Antisera erhältlich sind. Bekanntlich sind jedoch die H-chains der Immunglobulinklassen die Träger der Klassenspezifität, die untereinander nicht kreuzreagieren.

Interessanterweise wurde kürzlich über einen Fall von Alpha-chain-disease berichtet (57, 58), bei welchem ein Paraprotein vom Typ der IgA-Globuline vorlag, dessen Molekül ausschließlich aus fehlstrukturierten Alpha (H-)Polypeptidketten aufgebaut war. Die Alpha-Paraproteinämie war mit einer Alpha-chain-Urie sowie dem klinisch morphologischen Bild eines malignen Lymphomas vergesellschaftet. Demzufolge darf geschlossen werden, daß eine isolierte H-Kettenparaproteinose wie sie erstmals von γ G-Paraproteinen von Franklin (17, 37, 60) mitgeteilt wurde, prinzipiell von allen Immunglobulinklassen ableitbar ist. Zur Erfassung von H-chain-Anomalien aller heute bekannten Immunglobulinklassen wären somit entsprechende spezifische Anti-heavy-chain-Sera also Anti-alpha, Anti-gamma, Anti-my, sowie Anti-delta-Chain-Immunsera erforderlich.

Die Frage, ob bestimmte intermolekulare Konstellationen einen Paraproteintyp bzw. ein Paraprotein-Präzipitationsphänomen prägen, kann trotz des verhältnismäßig großen Untersuchungsgutes noch nicht eindeutig beantwortet werden. Möglicherweise ist aus derartigen Strukturveränderungen des Paraproteinmoleküls eine Beziehung zum Reife- bzw. Malignitätsgrad einer Paraproteinbildenden Zelle herzustellen.

Sicher aber sind an solche Strukturveränderungen wesentliche klinische Schlußfolgerungen gebunden, die in der immunologischen Funktion der Paraproteine zu suchen sind. Paraproteinämisch veränderte Immunglobuline können ihre antigenbindende Eigenschaft verlieren, wenn die Anomalie an das N-terminale Ende des Fab-Fragments (im wesentlichen L-chains) gebunden ist, umgekehrt kann aber bei einem Paraprotein, bei welchem ausschließlich die H-chains strukturverändert sind, durchaus eine antigenbindende Funktion und damit der Immunglobulincharakter noch gewahrt bleiben.

Weiterhin ist bekannt, daß an die verschiedenen Polypeptidketten eines Immunglobulinmoleküls verschiedene genetisch determinierte Eigenschaften gebunden sind: an die H-chains die Gm-Faktoren, an die L-chains die InV-Eigenschaften (62, 63). Wenngleich ihre Bedeutung heute noch nicht völlig aufgeklärt ist, steht jedoch außer Zweifel, daß es in den entsprechenden paraproteinämischen Fehlstrukturen zu genetischen Defektsituationen kommen kann. Die Testung mit spezifischen BJK- und BJL-Antisera ergab, daß der BJK-Typ relativ verbreitet ist, die BJL-Eigenschaft in einem Prozentsatz von nur 4,4 % nachweisbar wird. Dabei ist bemerkenswert, daß unter den BJK-positiven Seren unter anderem solche Seren zu finden sind, bei denen die BJK-Eigenschaft an nicht paraprotein-veränderte γ Globuline gebunden ist. Diese Befunde sind als immunologische Kreuzreaktionen zu werten. Sie besagen entweder, daß in diesen Fällen eine Doppelparaproteinämie vorliegt oder aber, daß die BJ-Proteineigenschaft nicht streng spezifisch zu betrachten ist, m. a. W. daß es sich bei den BJ-Antisera um wesentlichen um Antisera gegen L-Ketten handelt.

Es ist schließlich in diesem Zusammenhang zu diskutieren, ob nicht auch L-chains klassenspezifische Merkmale besitzen, so daß die nicht positiv ausgefallenen Serumproben bei der Testung mit BJ-Antisera eben keine klassenspezifische Reaktion mit den verwendeten BJ-Antisera eingehen konnten. Nicht völlig ausgeschlossen ist die Möglichkeit, daß die entsprechenden Äquivalenzmengen von Serumparaprotein und spezifischen Antiserum nicht erfaßt waren, obwohl in allen negativ ausgefallenen Proben Serumverdünnungen zwischen 1:4 und 1:16 angesetzt worden waren.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse haben somit gezeigt, daß die immunologische Analyse von Paraproteinen nicht

nur eine Charakterisierung und Typisierung von Paraproteinen erlaubt, sondern zugleich eine Aufklärung ihrer Grundstruktur gestattet. Dabei ist es nicht erforderlich, die Paraproteinfractionen zu isolieren und fermentativ zu spalten, sondern es gelingt die Analyse am unbehandelten Vollserum. In Fällen mit starker Paraproteinanreicherung empfiehlt sich die Kontrolle mit verschiedenen Verdünnungen. Diese eigenen Erfahrungen stehen im Einklang mit denjenigen anderer Autoren. Der technische Aufwand ist unwesentlich größer als bei routinemäßigen immunoelektrophoretischen Analysen. Darüber hinaus wird mit einem derartigen Analysensatz die Frage eines sekundären Antikörpermangel-Syndroms bei Paraproteinosen exakt abgrenzbar. Nach eigenen umfangreichen Beobachtungen an Myelomkranken vor allem mit γ G-Paraproteinen und immunologisch gesichertem Antikörpermangel-Syndroms, d. h. Fehlen der IgA und IgM fand sich klinisch nur in wenigen Fällen tatsächlich ein Antikörpermangel-Syndrom. Bei diesen Beispielen handelte es sich sicher um γ G-Paraproteine mit Anomalien in den H-chains, so daß die Antikörpereigenschaft hier immer noch erhalten war.

Diese und weitere bereits erwähnte klinische Gesichtspunkte sollten Anlaß genug sein, in geeigneten Fällen von Paraproteinosen einen immunoelektrophoretischen Analysensatz zur Strukturaufklärung auch im klinischen Routinelaboratorium anzustellen.

Zusammenfassung

67 Seren mit einem papierelektrophoretisch nachweisbaren Paraproteingradienten wurden immunoelktrophoretisch analysiert. Dabei wurde jedes Serum mit einem polyvalenten Antihumanserum sowie mit monovalenten Antiseren gegen die bekannten Immunglobulinklassen als auch mit monoclonalen Antiseren gegen heavy und light chains und gegen die Bence-Jones-K und L-Typen differenziert.

49,2 Prozent der untersuchten Fälle wiesen ein γ G-Paraprotein auf mit Untergruppen γ G I, γ G II, γ G III. In 28,3 Prozent der Fälle wurde ein γ A-Paraprotein und in 19,4 Prozent eine γ M-Anomalie nachgewiesen. In 4,4 Prozent der untersuchten Seren konnte darüber hinaus eine Doppelparaproteinämie aufgezeigt werden. Die Verteilung der Paraproteinphänomene auf die heavy und light chains gelang bei den γ G-Anomalien am besten. Hier war auch der prozentuale Anteil einer gleichzeitigen Verformung der heavy und light chains am höchsten. Die γ A-Paraproteine konnten mit Bezug auf ihre heavy chains nicht näher charakterisiert werden in Ermangelung eines spezifischen -chain-Antiserums. Dagegen konnten an Fab-Fragmente gebundene Anomalien dargestellt werden. Das gleiche gilt für γ M-Paraproteine.

Ein partielles oder vollkommenes Antikörpermangelsyndrom wurde bei der γ A-Paraproteinämie am häufigsten angetroffen.

In 20,5 Prozent der Fälle war ein pathologisches Präzipitat für das Bence-Jones-Protein vom Typ Kappa und in 4,4 Prozent der Fälle vom Typ lambda nachweisbar. Die Testung dieser pathologischen Sera mit einem spezifischen Anti-CRP-Serum ergab in 49,2 Prozent der Fälle ein einwandfreies positives Ergebnis.

An einigen wenigen Beispielen des Untersuchungsgutes wurden Phänomene sichtbar, die den Subfraktionen der Immunglobulin-klassen zuzuschreiben sind und auf die in der jüngsten Literatur immer wieder verwiesen wird, jedoch wurden diese Phänomene nur bei den γ G-Paraproteinen evident.

- 1) APITZ, K.:
 - a) Die Paraproteinosen. Über die Störungen des Eiweißstoffwechsels bei Plasmocytom.
Virchows Arch. path. Anat. 306, 631 (1940)
 - b) Die neuen Anschauungen von Plasmocytom des Knochenmarks.
Klin. Wschr. 1025 (1940)
 - c) Die Störung des Eiweißstoffwechsels bei Plasmocytom-trägern.
Klin. Wschr. 1055 (1940).
- 2) BARANDUN, S.:
Defektopathoproteinämien.
Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. 17, 203 (1961)
- 3) BARANDUN, S., H. J. HUSER und A. HÄSSIG:
Klinische Erscheinungsformen des Antikörpermangelsyndroms.
Schweiz. med. Wschr. 88, 78 (1958).
- 4) BARANDUN, S., G. STAMPFLI, G. A. SPENGLER und G. RIVA:
Die Klinik des Antikörpersyndroms.
Helv. med. Acta. 26, 163 und 203 (1959)
- 5) BERNIER, G. M., R. E. BALLIEUX, D. K. T. TOMINAGA and F. W. PUTTNAM:
Heavy chain subclasses of human γ - globulin.
Serum Distribution and cellular to calization.
Science 145, 168-170 (1964)
- 6) BERNIER, G. M. and J. J. CEBRA:
Frequency distribution of alpha, gamma, kappa, γ and lambda polypeptide chains in human lymphoid tissues.
J. Immunol. 95, 246 (1965).
- 7) BURTIN, P., B. GULLBERT und V. BUFFE:
Deux cas de myelome à immunoglobuline D.
Clin. Chim. Acta 13, 675 - 677 (1966)
- 8) COHEN, S. and R. R. PORTER:
Structure and biological activity of immunoglobulins.
Advances in Immunology 4, 287 (1964).
- 9) DRAY, S.:
Three γ - globulins in normal human serum revealed by monkey precipitations.
Science 132, 313 (1960).

- 10) FAHEY, J. L.:
 - a) Two types of 6, 6 γ globulins, γ_{2A} -globulins and 18 γ - macroglobulins in normal serum and γ - mikroglobulins in normale urine.
J. Immunol. 91, 438 (1964).
 - b) Antibodies and immunoglobulins
I. Structure and function II. Normal development and changes in disease.
J. Amer. med. Ass. 194, 71 und 255 (1965).
- 11) FAHEY, J. L., P. P. CARBONE, D. S. ROWE and R. BACHMANN:
Plasma cell myeloma with D-myeloma protein (IgD-myeloma).
Am. J. Med. 45, 373 - 380 (1968)
- 12) FAHEY, J. L., WUNDERLICH, R. MISHELL:
 - a) The immunoglobulins of mice.
I. Four major classes of immunoglobulins $7S\gamma_2$, $7S\gamma_1$, γ_{1A} (beta $_{2A}$) - and $18S:\gamma_1M$ - Globulines (1964).
J. Exp. Med. 100, 223-242 (1964)
 - b) The immunoglobulins of mice.
Two subclasses of mouse $7S\gamma_2$ Globulins γ_{2a} and γ_{2b} -globulins.
1964.
J. Exp. Med. 120, 243-251 (1964)
- 13) FLEISCHMAN, J. B.:
Immunoglobuline.
Ann. Rev. Biochem. 35, 895 (1966).
- 14) FLEISCHMAN, J. B., R. H. PAIN and R. R. PORTER:
Reduction of γ - globulins.
Arch. Biochem. Biophys. Suppl. 1, 174 (1962).
- 15) FLEISCHMAN, J. B., R. R. PORTER and E. M. PRESS:
The arrangement of the peptide chains in γ -globulin.
Biochem. J. 88, 220 (1963)
- 16) FRANKLIN, E. C.:
 - a) Structural studies of human $7S\gamma$ - globulins (G immunoglobuline)
J. exp. Med. 120, 691 (1964)
 - b) The immune globulins - their structure and function and some techniques for their isolation.
Progr. Allergy 8, 38 (1964).

- 17) FRANKLIN, E.C., J. LOWENSTEIN, D. BIGELOW
and M. MELTZER:
Heavy chain disease: a new disorder of serum γ - globulins.
Report of the first case.
Am. J. Med. 37, 332 - 350 (1964).
- 18) FRANKLIN, E.C. and D. R. STONWORTH:
Antigenic relationships between immune globulins and
certain related paraproteins in man. 1961.
J. exp. Med. 113, 521 - 533 (1962)
- 19) GITLIN, D.:
Current aspects of the structure, function and genetics of the
immunoglobulins.
Ann. Rev. Med. 17, 1 (1966).
- 20) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und E. BAIGGER:
Immunoelektrophoretische Phänomene bei der Analyse
path. Seren. II. Mitt.
Med. Welt 51, 2611 - 2614 (1968).
- 21) GRABAR, P. and C. A. WILLIAMS:
Methode permettant l'étude congugie de propriétés électrophorétique
et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au
serum sanguin.
Biochim. Biophys. Acta 10, 193 - 194 (1953).
- 22) GREY, H. M. and G. H. KUNKEL:
a) H-chain subgroups of myeloma proteins and normal
7 S γ -globulin.
J. exptl. Med. 120, 253 (1964)
b) Subdivision of myeloma proteins,
Fed. Proc. 23, 454 (1964)
- 23) HEREMANS, J.:
a) Les globulines sériques du système gamma, leur nature
et leur pathologie.
Masson, et Cie, Paris 1960.
b) Immunoelektrophoresis in : studies on "abnormal serum
globulins (M-components) in myeloma, makroglobulinemia
and related diseases".
Acta med. scand. Suppl. 267, 26 (1961).
- 24) HITZIG, W.:
Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin.
Springer. Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962.

- 25) ISLIKER, H.H., JACOT-GUILLARMOD und J.C. JATOU:
The structure and biological activity of immunoglobulins
and their subunits.
Ergeb. Physiol. Biol. chem. Exper. Pharmacol. 56, 67 (1965).
- 26) JAHNKE, K. und W. SCHOLTAU:
Atypische Makroglobulinämien.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 61, 312 (1955).
- 27) KAPPELER, R., G. A. SPENGLER, D.C. A. ROULET
und G. RIVA:
Über β_2 - A - Paraproteinosen.
Schweiz. med. Wschr. 91, 1151 (1962).
- 28) KANZOW, K.:
Die Makroglobulinämie Waldenström.
Klin. Wschr. 32, 151 (1954).
- 29) KANZOW, U. P. BÖHM und F. KUHN:
Über den Kohlehydratgehalt von Paraproteinen.
Klin. Wschr. 39 (1961), 1236.
- 30) KANZOW, U.G. FRANKEN und F. KUHN:
Differenzierung der Paraproteine beim Plasmocytom
und der Makroglobulinämie Waldenström.
Dtsch. med. Wschr. 86, 2347 (1962).
- 31) KUNKEL, H.G., J. KILANDER und M. MANNIK:
Current trends in immune globulin research.
Acta med. scand. 179 Suppl. 445, 63 (1966).
- 32) KÜHN, R.A.:
a) Symptomatische Makroglobulinämie oder Forme fruste
eines Morbus Waldenström.
Zschr. inn. Med. 22, 505 - 509 (1967).
b) Zur Klinik der Paraproteinosen.
Vortrag auf dem Symposium d. Ges. Allergie und Immunit.
Forsch. Halle, 1968.
- 33) LAURELL, A. H. F.:
Sera from patients with myeloma, makroglobulinemia and
related conditions by ultra centrifugation.
Acta med. scand. Suppl. 367, 69 (1961).
- 34) LENNOX, E. S. und M. COHN:
Immunoglobulins.
Ann. Rev. Biochem. 36 (1), 365 (1967).

- 35) MÄRKI, H. H. und F. WUHRMANN:
Abgrenzung und Pathogenese der klinisch bedeutsamen
Dysproteinämien.
Schweiz. med. Wschr. 91, 109 (1961)
- 36) MANNIK, M. und H. G. KÜNKEL:
Two major types of normal γ - globulins.
J. exp. Med. 117, 213 (1963)
- 37) OSSERMAN, E. F. und TAKATSUKI:
Clinical and immunochemical studies of four cases
of heavy chain ($H\gamma_2$) disease.
Amer. J. Med. 37, 351 - 375 (1964).
- 38) PEETOM, F. und B. KRAMER:
Development and anomalies of γ globulins (γ ss) investigated
with monkey anti-human-serum.
In Proceedings at the 9th Congress of European Society of
Haematology, Lisbon, Verlag S. Karger, Basel,
Switzerland (1963).
- 39) PENDE, D. und T. CHIARIONI:
Plasmocytomatous disease and its most interesting aspects
today.
Plasma (Milano) 2, 81, 1954).
- 40) PERNIS, B., F. WUHRMANN und Ch. WUNDERLY:
Amino-acid compositions of macroglobulins, four cases
of macroglobulinemia.
Acta haemat. 11, 309 (1954).
- 41) PORTER, R. R.:
The Hydrolysis of Rabbit γ - Globulin, and Antibodies
with Crystalline
Biochem. J. Vol. 73 (1959), 119.
- 42) PORTER, R. R. und M. PRESS:
Immunochemistry.
Ann. Rev. Biochem. 31, 625 (1962).
- 43) PUTNAM, F. W., C. W. EASTLY, L. P. LYNN:
Site of clearance of γ - globulins by papain.
Bioch. Biophys. Acta 58, 279 (1962).
- 44) REISSMANN, G.:
Das Serumeiweißbild bei malignen Reticulosen.
Folia haemat. 97, 313 (1962).

- 45) RHOMBERG, W.:
Beitrag zur Kenntnis der sogenannten rudimentären
Papaproteinämien.
Schweiz. med. Wschr. 98, 568 (1968)
- 46) RIEDERER, J.:
Makroglobulinämie Waldenström mit Leberparenchym-
schädigung.
Münch. med. Wschr. 103, 798 (1962).
- 47) ROWE, D.S:
The separation and antigenic characteristics of some
fractions of papain digest of human serum γ - globulins.
Immunology 5, 533 (1962).
- 48) SCHEIDEGGER, J. J. and C. BUZZI:
Immunoelktrophoretische Studien über die γ - Globuline,
Abgrenzung mehrerer antigener Determinanten mit Hilfe
der Bence-Jones-Eiweißkörper und von Myelomseren.
Rev. franc. Et. clin. biol. 2, 895 (1957).
- 49) SCHEIFFARTH, F.:
Frühdiagnose des Plasmozytoms, der Makroglobulinämie
Waldenström und verwandter Zustände.
Schriftenreihe d. Bayer. Landesärztekammer 12, 11-15 (1968)
- 50) SCHEIFFARTH, F. und H. GÖTZ:
a) Die bedeutung der Immunoelktrophorese bei der
Differenzierung pathologischer Seren.
Int. Arch. Allergy 16, 61- 92 (1959).
b) Zur Differentialdiagnose von Proteinveränderungen
path. Seren (Immunoelktrophoretische Analysen).
In: Henning, N.: Praktische Ergebnisse neuer klinischer
Forschung, Bluteiweiß und Immunologie S. 15-32, 1962,
Schattauer, Stuttgart.
c) γ - Glob. Diff. mit monoclonalen Antiseren.
Klin. Wschr. 46, 1165-1168 (1968).
- 51) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und E. BAIGGER:
Immunoelktrophoretische Phänomene bei der Analyse
pathologischer Seren.
I. Mitt.
Med. Welt 48, 2442 - 2448 (1963).
- 52) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und L. JUCHELKA:
Über die Bedeutung immunoelktrophoretischer Befunde
bei der Myelomkrankheit.
Med. Klinik 61, 744 - 750 , 1966.

- 53) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und H. LUTZ:
Zur Charakterisierung von Myelomproteinen und Makro-
globulinen.
Acta haemat. 34, 144- 159 (1965).
- 54) SCHEUERLEN, p.G.:
Klinik und Therapie der Paraproteinosen.
D.A. 4, 181 - 183 (1969).
- 55) SCHNEIDER, W. und H. BERNDT:
Praktikum und Atlas der Immunelektrophorese.
Lehmanns Verlag München 1969.
- 56) SCHULTZE, H.E. und J. F. HEREMANS:
Molecular biology of human proteins.
Elsevier Publ. Comp.,
Amsterdam-London-New York 1966.
- 57) SELIGMANN, M., F. DANON HUREZ, D. MIHAESCO,
E. PREUD'HOMME, J.G.:
Alpha-chain-Disease: A new Immunoglobulin-Abnormality Science.
Vol. 62, 3860 (1968).
- 58) SMITH, R. T.:
Human immunoglobuline - a guide to numenclature and
clinical application.
Pediatrics 37, 822 (1966).
- 59) STEIN, S., R. L. NACHMAN and R. L. ENGLE:
Individual and sub-group antigenic specificita of Bence - Jones-
Protein.
Nature 100, 1130 (1964).
- 60) TAKATSUKI, K. and E. F. OSSERMAN:
Structural differences between two types of heavy chain
"disease proteins" and myeloma globulins of corresponding
types.
Science 145, 499 (1964)
- 61) TERRY, W.D., J. L. FAHEY:
Subclasses of human γ_2 - Globulin, based on differences in
the heavy polypeptide chains.
Science 146, 400 (1964)
- 62) TERRY, W.D., J. L. FAHEY and G. A. STEINBERG:
Gm and InV-factors in subclasses of human IgG.
J. Exp. Med. 122, 1087 (1963).

- 63) TERRY, W. D., and M. S. ROBERTS:
Antigenic heterogeneity of human immunoglobulin A proteins.
Science 153, 1007 (1966).
- 64) TITANI, K., E. WHITLEY, jr. and F. W. PUTNAM:
Immunoglobulin structure. Variation in the sequence of
Bence-Jones proteins.
Science 152, 1513 (1965).
- 65) VAERMAN, J. P. and J. F. HEREMANS:
Subclasses of human immunoglobulin A, based on differences
in the alpha polypeptide chains.
Science 153, 647 (1966).
- 66) WALDENSTRÖM, J.:
Natürliche Einteilung der Myelome und ähnlicher Zustände.
Proc. Congr. Europ. Haemat. 8, 162 (1961).
- 67) WILDHACK, R.:
Serumeiweißveränderungen bei der Lymphogranulomatose.
Dtsch. med. Wschr. 82, 912 (1957).
- 68) WILDHIRT, E.:
Myelomähnliche Serumeiweißveränderungen bei Lebercirrhose.
Acta haemat. 20, 34 (1958).
- 69) WUHRMANN, F., Ch. WUNDERLY und E. WIEDEMANN:
Über das alpha-Globulin-Plasmocytom.
Schweiz. med. Wschr. 78, 180 (1948).
- 70) WUHRMANN, F. und H. H. MÄRKI:
Dysproteinämien und Paraproteinämien.
Schwabe & Co., Basel-Stuttgart 1963.
- 71) WUKETICH, St. und G. SIEGMUND:
a) Plasmacytom mit atypischer Makroglobulinämie.
Dtsch. Arch. Klin. Med. 285, 213 (1958).

b) Multiples Plasmocytom mit Übergang in riesenzelliges
Reticulosarkom.
Wien. Klin. Wschr. 73, 473 (1962).
- 72) YOUNT, W. J., H. G. KUNKEL, S. D. LITWIN:
Studies of the Vi (γ_{2G}) subgroup of γ -globulin.
A Relationship between concentration and genetic type among
normal individuals, 1966.
J. Immunol. 97, 177-190 (1967)

Lebenslauf

Am 29. Februar 1940 wurde ich als Sohn des Steuerassistenten Joseph Grumeth und dessen Ehefrau Maria Grumeth in Regensburg geboren. 1946 wurde ich in Riedenburg in die dortige Volksschule eingeschult. Von 1951 bis 1956 besuchte ich die Oberrealschule in Regensburg. 1961 legte ich an der Oberrealschule in Schwabach die Reifeprüfung ab. Der schulische Wechsel wurde durch familiäre Gründe bedingt.

Nach einem kurzen Studium der Betriebswirtschaft entschloß ich mich nach reiflicher Überlegung im Sommersemester 1962 das Studium der Medizin an der Universität Erlangen-Nürnberg zu beginnen. Termingerecht legte ich die für das Medizinstudium vorgeschriebenen Zwischenprüfungen ab und bestand im Wintersemester 1968 das medizinische Staatsexamen mit gutem Erfolg.

Nach kurzer Ausbildung an der Universitäts-Hautklinik Erlangen, setzte ich meine Ausbildung an der Abteilung für klinische Immunologie des Universitäts-Krankenhauses Erlangen fort. In dieser Zeit fertigte ich meine Dissertationsarbeit zur Erlangen der Doktorwürde der hohen medizinischen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg an.

Derzeit bin ich noch Medizinalassistent an den Städtischen Krankenanstalten Nürnberg.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
